Aus dem Institut für Veterinärhygiene
der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof.Dr.H.Hartwigk

UNTERSUCHUNGEN VON RINDERTONSILLEN AUF DAS VORKOMMEN VON CORYNEBAKTERIUM (C.) PYOGENES

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

Vorgelegt von
Werner Grupe
Tierarzt aus Helmstedt

Berlin 1963

Journal-Nr. 406

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548012_0068

Aus dem Institut für Veterinärhygiene
der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof.Dr.H.Hartwigk

UNTERSUCHUNGEN VON RINDERTONSILLEN AUF DAS VORKOMMEN VON CORYNEBAKTERIUM (C.) PYOGENES

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Vorgelegt von
Werner Grupe
Tierarzt aus Helmstedt

Berlin 1963

Journal-Nr. 406

Gedruckt mit Genehmigung
der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Dekan : Prof. Dr. H.J. Heidrich
Referent : Prof. Dr. H. Hartwigk
Korreferent : Prof. Dr. H. J. Heidrich

Tag der mündlichen Prüfung: 20.Februar 1963
Tag der Promotion: 1. 8. 1963

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	5
A. Literatur	
I. C. pyogenes	
1. Charakteristika	7
2. Vorkommen bei klinisch gesunden Tieren	8
II. Atypische Variante des C. pyogenes	
1. Charakteristika	11
2. Vorkommen beim Rind	12
III. Atypische Corynebakterien beim Menschen	13
B. Eigene Untersuchungen	
I. Problemstellung	18
II. Material	19
III. Technik	19
IV. Ergebnisse	
1. Häufigkeit von C. pyogenes in den Tonsillen	25
2. Häufigkeit von C. pyogenes in seiner typischen und atypischen Variante in den Tonsillen	26
V. Besprechung der Ergebnisse	31
VI. Zusammenfassung	34
C. Literaturverzeichnis	35

Einleitung

Das C. pyogenes gilt als ein für das Rind und das Schwein spezifischer Eitererreger. Es verursacht beim Rind die als Holsteinsche Euterseuche bekannte Mastitis und wird weiterhin für einige Fortpflanzungsstörungen wie die eitrige Metritis und eine bestimmte Art von Abort verantwortlich gemacht. Das C. pyogenes wird als ein fakultativ pathogener Eitererreger angesehen, der nur dann eitrige Prozesse hervorruft, wenn prädisponierende Ursachen hinzukommen. In Eiterungsprozessen kann er als primärer oder sekundärer Keim relativ oft bei Rindern und Schweinen nachgewiesen werden. Hinsichtlich der Pathogenese ist eine offene Frage, ob der Erreger beim Rind in primärer Latenz vorkommt oder ob angenommen werden muß, daß er von der Außenwelt her das Rind infiziert.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß das C. pyogenes durch Fliegen oder Insekten auf das Rind übertragen werden kann. Dieser Übertragungsmodus gibt jedoch für die Entstehung nicht aller beim Rind vorkommenden Infektionen eine hinreichende Erklärung. Francis (13) konnte das C. pyogenes des öfteren in Tonsillen klinisch gesunder Rinder nachweisen. Lovell (34) stellte überdies im Blut fast jeden älteren Rindes für das C. pyogenes spezifische Antikörper fest. Die Befunde beider Autoren sprechen dafür, daß mit einem latenten Vorkommen des Keims im Rinderorganismus gerechnet werden muß, und daß die durch ihn hervorgerufenen Eiterungen oder eitrigen Prozesse durch eine endogene Infektion entstehen können. Das Zustandekommen einer Infektion der Gebärmutter auf exogenem Wege ist auf Grund von Versuchen, die Beaver durchführte, kaum anzunehmen. Beaver (3) konnte jedenfalls mit einer künstlichen Infektion von der Scheide aus eine Gebärmutterentzündung beim Rind nicht hervorrufen.

Um die Frage eines latenten Vorkommens von C. pyogenes im Rinderorganismus zu prüfen, wurde mir die Aufgabe übertragen, Tonsillen klinisch gesunder Schlachtrinder auf C. pyogenes zu untersuchen. Dabei sollten pyogenesverdächtige Keime kulturell isoliert und nach Erzielung einer Reinkultur auf ihre Eigenschaften geprüft werden.

A. Literatur

I. C.pyogenes

1. Charakteristika

Das C. pyogenes ist ein grampositives, unbewegliches Stäbchen, dessen Maße mit 0,2 - 0,3 Mikra Dicke und 2 Mikra Länge angegeben werden (4). Es zeichnet sich durch eine ausgesprochene Pleomorphie aus. Kleine, kurze Stäbchen können daher neben längeren vorkommen. Die Enden der Stäbchen sind oft keulenförmig aufgetrieben. Nicht selten bilden sie kurze Ketten und erscheinen in streptokokken-ähnlicher Anordnung. Die Art der Nährmedien kann einen Einfluß auf die Gestalt des Keims haben. Diphtheroide und streptokokkoide Formen wurden beispielsweise von Brown und Orcutt (7) besonders auf Blutagar beobachtet. Neben zahlreichen grampositiven Stäbchen kommen mitunter auch gramnegative Keime vor. Die Ursachen des gramnegativen Verhaltens sind zwar wiederholt untersucht, aber nie vollkommen geklärt worden (7, 16).

Die C. pyogenes-Kolonie ruft auf der Frischblutplatte einen schmalen beta-hämolytischen Hof hervor. Die Entwicklung der Kolonien ist unter anaeroben Bedingungen üppiger als unter aeroben. Gelatine wird gelöst, ebenfalls koaguliertes Eiweiß. Das Verhalten in Lackmusmilch ist besonders charakteristisch. Die Milch wird zunächst durch Säurebildung gerötet. Nach 48 - 72 stündiger Bebrütung tritt dann eine Gerinnung ein. Eine Peptonisierung folgt kurz danach oder später. Bei fortgesetzter Bebrütung wird das Milchgerinnsel nach und nach kleiner, so daß sich ein Überstand von klarer Molke ergibt. Einzelne Stämme produzieren Katalase, sonst sind die Keime stets urease- und indol-negativ. Nitrate werden nicht zu Nitriten reduziert. In Serumbouillon werden Glukose und Laktose immer, Raffinose, Salizin und Inulin hingegen in keinem Fall fermentiert.

Durch bestimmte Eigenschaften ist das C. pyogenes von anderen Corynebakterien gut unterscheidbar. Es wächst in farblosen, transparenten und stecknadelstich-großen Kolonien und ist in seinem Wachstum bei der Weiterzüchtung davon abhängig, daß dem Nährboden entweder Blut oder Blutserum zugefügt wurde. Im Schrifttum wird das C. pyogenes übereinstimmend als serophil bezeichnet (4, 7, 51). Die Prüfung auf Serophilie zur Unterscheidung von anderen Corynebakterien hat aber stets von der Reinkultur aus zu erfolgen, denn bei der Anzüchtung aus bluthaltigem Material oder Eiter wächst der Keim auch auf serumfreien Nährböden. Durch sein Verhalten in Lackmusmilch ist das C. pyogenes sehr gut von anderen Corynebakterien zu unterscheiden. Ebenso ist der Keim die einzige Corynebakterienart, die Gelatinase bildet und koaguliertes Löfflerserum löst.

2. Vorkommen bei klinisch gesunden Tieren

Francis (13) untersuchte 100 Tonsillenpaare von bei der Fleischbeschau beanstandeten Schlachtrindern und Scheidentupferproben von 40 klinisch gesunden Milchkühen bakteriologisch. Er fand das C. pyogenes in den Tonsillen in 18 Fällen und 1mal in einer Scheidentupferprobe. Der Autor weist darauf hin, daß die Latenz des C. pyogenes bei klinisch gesunden Rindern beachtet werden müsse und zur Klärung der Pathogenese der Pyogenes-Mastitis wesentlich beitragen könne.

Weitz (50) untersuchte die Scheidenflora von 100 gesunden und 180 sterilen Kühen. Er fand bei den gesunden Tieren das C. pyogenes in 1 Fall. Bei den sterilen Tieren mit reichlich Scheidenausfluß ließ sich das Bakterium in 27,6 % der Fälle nachweisen. Sterile Kühe ohne Ausfluß entsprachen in ihrer Scheidenflora den gesunden.

Ochy und Zaizen (41) regte der häufige Nachweis von C. pyogenes in Abszessen an Magen und Zwerchfell zu Untersuchungen gesunder Rinder an, um über das Vorkommen dieses Keims Klarheit zu erlangen. Die Autoren fanden den Keim in Mundschleimhautproben von 100 Rindern in 34 Fällen, in Nasenschleimproben von 20 Rindern in 2 Fällen und in der Scheide bei 11 Rindern in 6 Fällen. In den Augen von 20 Rindern ermittelten sie den Keim 1mal und im Harn von 32 Rindern 3mal. Bei Meerschweinchen untersuchten die Autoren insbesondere die Mundschleimhaut. Sie konnten bei 3 % der Tiere C. pyogenes feststellen, hingegen verliefen entsprechende Untersuchungen bei 100 Pferden negativ. Wie die Autoren betonen, glichen sich alle Stämme, die sie aus Abszessen und aus gesunden Tieren isolierten, in ihren morphologischen, kulturellen und biochemischen Merkmalen. Nach unseren heutigen Kenntnissen über die Eigenschaften des C. pyogenes muß es aber als zweifelhaft hingestellt werden, ob es sich bei den beim Meerschweinchen isolierten Keimen in der Tat um C. pyogenes gehandelt hat. Auch sind wir uns nicht sicher, ob alle beim Rind festgestellten Keime tatsächlich zum Genus C. pyogenes gehörten.

In der neueren Zeit hat man die Untersuchungen insbesondere auch auf Samenproben ausgedehnt, weil die Frage interessierte, ob das C. pyogenes bei bestimmten Arten von Unfruchtbarkeit ätiologisch eine Rolle spielen könnte.

Hancock und Kelley (21) untersuchten 150 Samenproben von 70 Bullen und isolierten das C. pyogenes aus dem Samen von 25 dieser Tiere. Sie überprüften die klinisch gesunden Bullen über längere Zeit und stellten fest, daß das Bakterium ständig mit dem Samen ausgeschieden wurde. Die Autoren sehen in solchen latenten Bakterienausscheidern eine bedeutende Infektionsquelle für weibliche Rinder.

Bratke (6) untersuchte 250 Sperma-Präputialtupfer- und -spülproben von Bullen, die im Rahmen der künstlichen Besamung entnommen worden waren, auf vorhandene Keimarten. Sie beschäftigte sich besonders mit der Frage des Vorkommens von C. renale und C. pyogenes und versuchte zu klären, ob beide Keime für die Befruchtungsrate des einzelnen Bullen eine Bedeutung haben. Die Autorin ließ sich von jedem Bullen einen Begleitbericht einsenden, der für die Anamnese wichtige Angaben enthielt, und verglich ihre bakteriellen Befunde mit den Begleitberichten. Bei 8 % der Bullen lag im Sperma C. pyogenes vor und ergab der Vorbericht einen ungünstigen Befruchtungsindex. In Reagensglasversuchen brachte sie das C. pyogenes mit frischen Spermaproben zusammen. Dabei konnte sie feststellen, daß die Keime keinen nachteiligen Einfluß auf die Spermatozoen ausübten. Die Befruchtungsfähigkeit der Spermien war normal. Bratke glaubt daher, daß der Keim bei Anwesenheit im Sperma die Spermien nicht unbedingt schädigt. Sie sieht die Bedeutung des C. pyogenes hauptsächlich in der Tatsache, daß es Infektionen bei Kühen hervorrufen kann.

Hartwigk (23) fand bei einer Kuh und ihrem abortierten Fetus das C. pyogenes und bezeichnet diesen Keim als die Ursache für den Abort. Er untersuchte Samenproben von 4 Bullen, die zu zweit auf verschiedenen Besamungsstationen standen, in einwöchigen Abständen und konnte bei 1 Bullen 2mal in einwöchigem Abstand C. pyogenes im Sperma feststellen. Insgesamt war der Samen dieses Bullen 6mal untersucht worden. Bei Untersuchung von Biopsieproben von 15 Schlachtkühen und von Uterusschleimhautgeschabselproben von 12 dieser Kühe wurde das C. pyogenes 2mal in Biopsieproben und 1mal in einer Uterusschleimhautgeschabselprobe gefunden. Der Autor deutet die Möglichkeit an, daß das C. pyogenes Fortpflanzungsstörungen beim Rind verursacht.

Bosworth und Lovell (5) beschäftigten sich mit Untersuchungen der Nasenhöhlen und Luftröhren von Rindern und Schafen, um die in ihnen vorkommende Keimflora zu ermitteln. Sie arbeiteten mit Tupferproben und bestimmten die diesen anhaftenden Keimarten. Insgesamt wurden 100 Schafe und 113 Kühe und Kälber untersucht. Neben hämolytischen Mikrokokken wurde in 9 Fällen C. pyogenes nachgewiesen. Die positiven Befunde wurden bei 7 Nasentupferproben und bei 2 Trachealproben, in jedem Fall von Schafen, erzielt. Nach den Erfahrungen des Instituts sind Nachweise von C. pyogenes bei Schafen sehr selten. Die Befunde von Bosworth und Lovell sind daher nicht ganz überzeugend.

II. Atypische Variante des C. pyogenes

1. Charakteristika

Die Tatsache, daß eine Zuordnung von Corynebakterien, die man bei Tieren oder beim Menschen findet, zu einer bestimmten Spezies nicht immer möglich ist, hat dazu geführt, daß in der neueren Zeit der Begriff "atypische Corynebakterien" geprägt wurde. Bei dieser Begriffsfassung ging man davon aus, daß die Bakterien auf Grund atypischer Eigenschaften mit bekannten Corynebakterienarten nicht ohne weiteres identifiziert werden konnten und deshalb eine Sonderstellung erhalten mußten. Man scheute sich, neue Bezeichnungen einzuführen, und hielt es deshalb für besser, den Begriff der "atypischen Corynebakterien" zu schaffen. Stoll (47) führte bakteriologische Milchuntersuchungen zum Nachweis von Listerien durch. Er stellte dabei Corynebakterien fest, die er nicht in das Bakteriensystem einordnen konnte. Zur Charakterisierung dieser Corynebakterien bediente er sich ebenfalls des Begriffes "atypische Corynebakterien", obwohl er nicht erkennen ließ, zu welcher bekannten Spe-

zies seine Bakterien sich atypisch verhielten. Hartwigk (24) hat empfohlen, von atypischen Corynebakterien nur dann zu sprechen, wenn sich die Bakterien nur in einigen Merkmalen von einer bekannten Corynebakterien-Spezies unterscheiden.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit soll der Begriff "atypische Corynebakterien" nur im Hinblick auf die Spezies C. pyogenes gebraucht werden. Hierbei ist klarzustellen, inwieweit aus der Literatur Fälle bekannt sind, in denen atypische Corynebakterien beim Tier gefunden worden sind.

Nach Hartwigk (24, 22) verhalten sich atypische Corynebakterien des C. pyogenes in vielen Eigenschaften wie in ihrer Serophilie, ihrer Beta-Hämolyse und ihren biochemischen Leistungen gegenüber Kohlenhydraten, hochwertigen Alkololen und Glykosiden wie typische Corynebakterien dieser Spezies. Sie unterscheiden sich aber in ihrem Verhalten in der Lackmusmilch, auf Gelatinenährboden und gegenüber dem koagulierten Löfflerserum. Sie säuern die Lackmusmilch, bringen sie in der Regel zur Gerinnung, peptonisieren das Milchgerinnsel aber nicht. Eine Gelatinaseaktivität fehlt, ebenso wird erstarrtes Löfflerserum nicht zur Verflüssigung gebracht. Die typischen Vertreter des C. pyogenes hingegen peptonisieren Lackmusmilch und verflüssigen Gelatine und erstarrtes Löfflerserum.

2. Vorkommen beim Rind

Die tschechischen Autoren Kolár, Krala und Bastar (32) bezeichneten ihre isolierten Stämme als atypisch, obwohl sie koaguliertes Löfflerserum verflüssigten, Milch "angriffen" und gelatinase-aktiv waren. Die Autoren meinten aber, es mit atypischen Corynebakterien zu tun zu haben, weil sie eine höhere Fermentaktivität ihrer Keime gegenüber Zuckern feststellen konnten.

Auf Grund dieser uns nur zugänglichen Angaben erscheint uns zweifelhaft, ob es sich tatsächlich um atypische Corynebakterien der Spezies C. pyogenes gehandelt hat.

Hartwigk und Grund (22) gewannen von klinisch gesunden Schlachtrindern 3 Stämme eines atypischen Corynebakteriums. 1 Stamm (G 11) konnte aus einer Uterusgeschabselprobe isoliert werden, 2 Stämme (I/2 und V/1) wurden aus je einer Vaginaltupferprobe gewonnen. Beide Autoren führten mittels Präzipitation und Komplementbindung serologische Untersuchungen an typischen und atypischen Stämmen durch und kamen zu dem Ergebnis, daß beide Varianten in antigener Beziehung weitgehend übereinstimmen. In weiteren Untersuchungen mit dem von Lovell empfohlenen Hämolysin- und Hämolysinhemmungstest konnte Hartwigk feststellen, daß sich typische und atypische Varianten auch bei diesem Test weitgehend gleich verhalten. Biochemisch unterschieden sich die atypischen Corynebakterien von den typischen Stämmen des C. pyogenes durch ihre Gelatinaseinaktivität und durch ihr Unvermögen, Lackmusmilch zu peptonisieren sowie erstarrtes Löfflerserum zu lösen.

III. Atypische Corynebakterien beim Menschen

Hinsichtlich des Vorkommens atypischer Corynebakterien beim Menschen liegen zahlreiche Mitteilungen in der Literatur vor. Wenn auch die Angaben der Autoren über die Eigenschaften der von ihnen nachgewiesenen atypischen Corynebakterien mitunter unvollständig sind, so kann doch unterstellt werden, daß es sich hierbei um Keime gehandelt hat, die in mancher Hinsicht dem C. pyogenes nahestehen. Das ersieht man auch daraus, daß eine Reihe von Autoren keine Bedenken trug, die Bakterien mit dem C. pyogenes zu identifizieren. Patocka (43) ist der Auf-

fassung, daß die von ihm beim Menschen isolierten Corynebakterien mit einigen Spezies von Corynebakterien verwandt sind. Da diese Keime in einzelnen kulturellen Merkmalen von C. pyogenes bovis abweichen, spricht Patocka von humanen Varianten, die sich durch Anpassung an den menschlichen Organismus in ihren Eigenschaften geändert haben. Für eine Einordnung in das Bakteriensystem sieht der Autor noch keine Möglichkeit, da eine umfassende Charakteristik für die Aufstellung einer neuen Spezies bisher fehlt.

Patocka (43) untersuchte 14 stark hämolysierende Corynebakterien-Stämme, die aus Krankheitsprozessen beim Menschen isoliert worden waren. Die Keime zeichneten sich außer durch ihre hämolysierende Eigenschaft durch langsame Verflüssigung von Gelatine, Serophilie und die Fähigkeit aus, Milch langsam zur Gerinnung zu bringen. Ob diese Keime das Milchgerinnsel auch zu verdauen vermochten, wurde von Patocka nicht erwähnt. Jedoch gibt der Autor an, daß die Keime sich oft als mikroaerophil zeigten und Stärke fermentierten. Die Mehrzahl der Stämme war für Kaninchen und Meerschweinchen pathogen. Der Tod der Versuchstiere trat augenscheinlich durch Toxinwirkung ein. Den virulentesten Stamm untersuchte der Autor besonders eingehend. Es ließ sich nach Aufslösung des Bakterienleibes ein hitzestabiles Toxin isolieren, das bei intravenöser Verabreichung in gewissen Zeitintervallen Kaninchen und Mäuse unter Symtomen einer aszendierenden Paralyse tötete. Das Toxin zeigte keine Verwandschaft zu dem toxischen Protein des C. diphtheriae.

In einer Arbeit von Patocka und Schindler (44) über "neu isolierte Stämme von atypischen Corynebakterien beim Menschen und ihr Vergleich mit Tierstämmen" wird erwähnt, daß keiner der Stämme Nitrate zu Nitriten reduzierte, alle Stämme Milch sehr langsam zur Gerinnung brachten und Gelatine nur schwach oder überhaupt nicht

verflüssigten. Saccharose und Stärke wurden von allen Stämmen abgebaut. Die Unterschiede zwischen Tier- und Menschenstämmen bestanden darin, daß die Tierstämme Gelatine intensiv verflüssigten und Milch rasch zur Gerinnung brachten. Saccharose wurde nicht gespalten, Hämolysine wurden in unterschiedlichen Mengen gebildet. Die Autoren sind der Meinung, daß die Diskrepanzen in den Eigenschaften von menschlichen und tierischen Stämmen nicht so erheblich sind, daß man sie zu verschiedenen Spezies rechnen muß. Sie erwähnen, daß die Unterschiede recht konstant sind und man daher mit der "Existenz fester humaner Varianten" rechnen müßte.

Die tschechischen Autoren Duben, Neubauer und Duben (11) führten in einer Arbeit über das C. pyogenes bovis nochmals einen Vergleich von Tierstämmen mit humanen Varianten durch. Insgesamt wurden 32 Stämme des C. pyogenes bovis morphologisch, kulturell, biochemisch und im Tierversuch in ihren Eigenschaften geprüft und mit den von Patocka isolierten humanen Varianten verglichen. Die tierischen Stämme zeigten alle Beta-Hämolyse, was bei allen Stämmen Patockas nicht der Fall war. Die bovinen Stämme lösten Gelatine und koaguliertes Serum stärker als die humanen, ebenso wurde Lackmusmilch schneller gerötet, koaguliert und peptonisiert. Die Fermentierung von Kohlehydraten war bei den tierischen Stämmen viel intensiver als bei den humanen. Bei Untersuchung des Toxins im Tierversuch ergaben sich gewisse Unterschiede zwischen tierischen und humanen Stämmen. Das Hämolysin der bovinen Stämme erwies sich als thermolabiles Exotoxin. Der höchste ermittelte Hämolysintiter betrug 1:8192. Bei Erhitzung auf 56° C wurde das Hämolysin in 5 Minuten zerstört. Die Autoren fassen das Ergebnis ihrer Hämolysinprüfungen dahin zusammen, daß das C. pyogenes größere Mengen Hämolysin produziert als die Varianten Patockas. Sie glauben daher, daß das C. pyogenes bovis "sich teilweise von den atypischen Varianten, die von Patocka aus Menschenmaterial isoliert wurden", unterscheidet.

In einem Referat über eine weitere Arbeit von Patocka u.a. (45) wird darauf hingewiesen, daß die Autoren eine Übersicht über die große Zahl isolierter, sogenannter humaner Varianten von C. pyogenes geben. Es scheinen diese Keime in der Bevölkerung der CSR weit verbreitet zu sein, und es wird nicht als zweifelhaft angesehen, daß sie für eine besondere Art von Angina, die zuweilen mit einem Exanthem zusammen auftritt und ernste metastatische Komplikationen haben kann, ätiologisch von Bedeutung sind. Die isolierten Keime haben gewisse biologische Eigenschaften mit C. pyogenes, C. Preisz-Nocardi und C. striatum flavidum gemein.

Eine Zusammenstellung der in der Literatur mitgeteilten Krankheitsfälle, bei denen atypische Corynebakterien allein oder zusammen mit anderen Bakterien isoliert werden konnten, ist in den Arbeiten von Hartwigk und Grund (22) und Gärtner und Knothe (15) enthalten. Aus der Vielzahl der Mitteilungen soll auf die Arbeit von Drescher besonders hingewiesen werden.

Drescher (10) hat in der Zeit von 1948-1950 das C. nekrotikans, eine Bezeichnung, die Lodenkämper (33) vorschlug, 5mal beobachtet. 2 Fälle werden näher beschrieben. Im 1. Fall handelt es sich um eine Schußfraktureiterung mit Unterschenkelphlegmone und im 2. Fall um einen Peritonsillarabszeß. Es lag in beiden Fällen ein Corynebakterium in Reinkultur vor, das nach zweitägiger Bebrütung eine Beta-Hämolyse hervorrief. Die Keime waren ausgesprochen pleomorph und obligat serophil. Sie vergärten bis zum 3. Tag Dextrose, Saccharose, Laktose, Maltose und Mannit. Der Autor weist darauf hin, daß das C. nekrotikans sich vom C. pyogenes durch seine Fähigkeit unterscheidet, Mannit zu vergären. Bei einem Intrakutantest am Meerschweinchen entstand an der Injektionsstelle eine Nekrose. Die Pleomorphie, die starke Eiweißbedürftigkeit und die nekrotisierende Fähigkeit in der Meerschweinchenhaut hält Drescher für besondere Eigenschaften des C. nekrotikans.

Andere Autoren führen als kennzeichnende Eigenschaften der von ihnen isolierten atypischen Corynebakterien außer der Serophilie das Verhalten gegenüber Gelatine und in Lackmusmilch an. Die Keime zeigen keine Gelatinaseaktivität (15, 33, 39), nur Mac Lean, Liebow und Rosenberg (35) berichten von einigen Stämmen, die Gelatine schwach lösten. Die von ihnen geprüften Keime koagulierten Milch und brachten das Gerinnsel ausnahmslos in 6-7 Tagen zur Kontraktion, sie bewirkten aber "keine Verdauung des Eiweisses in 24 Stunden, wie es das C. pyogenes tut". Andere Verfasser beobachteten eine Rötung und Gerinnung der Lackmusmilch (1, 15, 33), erwähnen aber nicht, ob die Milch peptonisiert wurde. Moser (38) isolierte aus einer Darmbeinfistel einen Keim, den er als C. pyogenes bezeichnet. Der Keim peptonisierte Milch nicht. Die nekrotisierende oder abszedierende Fähigkeit der atypischen Corynebakterien in der Haut von Meerschweinchen oder Kaninchen bestätigen neben Drescher fast alle Autoren (39, 33, 35, 42).

B. Eigene Untersuchungen

I. Problemstellung

Nach den Untersuchungsergebnissen von Francis (13) und Lovell (34) war anzunehmen, daß typische Pyogenes-Bakterien in Rindertonsillen nachweisbar sind. Von einer möglichst großen Zahl von Schlachtrindern sollten daher unmittelbar nach der Schlachtung die Tonsillen entnommen und innerhalb kurzer Zeit auf die in den Tonsillen enthaltenen Bakterienarten untersucht werden. Es war geplant, beide Tonsillen eines jeden Tieres der Untersuchung zu unterziehen, um feststellen zu können, ob die Keimflora in beiden Tonsillen übereinstimmte oder nicht übereinstimmend war. Da sich schon bei den ersten Untersuchungen herausstellte, daß die Keimflora der Tonsillen sehr reichhaltig war, wurde nur nach betahämolytischen Corynebakterien gefahndet, um die Untersuchungen nicht ins Uferlose gehen zu lassen.

II. Material

Die untersuchten Tonsillen stammten ausschließlich von klinisch gesunden Schlachtrindern der Schwarzbunten Niederungsrasse und des Höhenfleckviehs. Die Tiere setzten sich aus 44 Kühen, die 3-8 Jahre alt waren, 3 Färsen und 3 Jungbullen im Alter von 1-2 Jahren zusammen. Die Tonsillen wurden unmittelbar nach der Schlachtung unter möglichst sterilen Kautelen entnommen und getrennt in je eine sterile Petrischale gelegt. Sie waren walnuß- bis pflaumen-groß und an Gestalt etwa gleich, lediglich einzelne Tonsillen fielen durch eine etwas stärkere Lappung auf. Makroskopisch ließen sich an den Tonsillen keine pathologischen Veränderungen erkennen. Die Verarbeitung der Tonsillen erfolgte stets am Tag der Entnahme.

III. Technik

Zur Isolierung der Keime wurde gewöhnlicher Nähragar verwendet, dem 5 % defibrinierten Hammelblutes zugesetzt worden war. Von jeder Tonsille wurde mit 3 verschiedenen Materialien je eine halbe Frischblutagarplatte beimpft. Zunächst wurde aus einer Krypte mit der Platinöse etwas Sekret entnommen und auf einer halben Blutagarplatte ausgestrichen, dann schloß sich die Beimpfung von 2 weiteren Blutagarplattenhälften mit je einer Schnittfläche an, die unter möglichst sterilen Bedingungen vertikal durch das Tonsillengewebe angelegt wurde. Zur Beurteilung des bakteriologischen Befundes standen mithin bei jeder Tonsille 3 Blutagarplattenhälften zur Verfügung. Nach 48stündiger Bebrütung bei 37,5° C wurde das Wachstum der aufgegangenen Kolonien makroskopisch beurteilt. Es waren durchweg zahlreiche Kolonien verschiedener Größe vorhanden. Unter diesen ließen sich oft sehr kleine, transparente Kolonien mit beta-hämolytischem Hof erkennen.

Es erfolgte ein Abstechen dieser verdächtigen Kolonien mit dem Spatel von Grund (19). Was die Zahl der für die Gewinnung einer Reinkultur abgeimpften Kolonien anbetrifft, so wurde mindestens von jeder Plattenhälfte (insgesamt 3) 1 Kolonie auf einen frischen Nährboden (Frischblutagar) übertragen. Im allgemeinen bereitete die Gewinnung einer Reinkultur keine Schwierigkeiten, obwohl das Abstechen mit dem Spatel mit unbewaffnetem Auge vorgenommen wurde. Jede Reinkultur wurde durch einen Objektträgerausstrich überprüft, der nach Gram gefärbt wurde. Ergab sich hierbei, daß corynebakterienähnliche Keime vorlagen, wurde eine weitere Differenzierung eingeleitet.

Die Differenzierung erstreckte sich auf den Nachweis folgender Eigenschaften:

1. Verhalten gegenüber Lackmusmilch:

Frische, möglichst keimarme Vollmich wurde in der Zentrifuge entrahmt, kurz aufgekocht und durch Watte filtriert. Der entrahmten Milch wurden 2,5 % - 3 % Lackmuslösung nach Kubel-Tiemann zugesetzt. Nach gründlichem Mischen wurde die Lackmusmilch zu je 5 ml auf Reagensröhrchen gefüllt und im Dampftopf an 2 aufeinander folgenden Tagen je eine halbe Stunde sterilisiert. Nach Beimpfung wurde der Nährboden 14 Tage bebrütet und täglich kontrolliert.

2. Gelatinaseaktivität:

Die Prüfung erfolgte auf Gelatineagar in Petrischalen, der aus 9 Teilen gewöhnlichen Nähragars (pH 7,6) und 1 Teil Nährgelatine (pH 7,6) zusammengesetzt war. Das Zusammenmischen beider Nährmedien erfolgte nach 1/2-stündiger Erhitzung im Dampftopf. Das Gemisch wurde in einer Menge von 15-16 ml je Schale heiß in Petrischalen gegossen. Die Bebrütungszeit nach der Beimpfung mit verdächtigen Corynebakterien betrug 48 Stunden. Nach Ablauf

dieser Zeit wurde der Nährboden zur Ermittlung der Gelatinaseaktivität mit Sublimatlösung übergossen. Im positiven Fall wurde der zuvor trübe Gelatineagar innerhalb der nächsten 1-2 Minuten durchsichtig. Die Sublimatlösung bestand aus Quecksilberchlorid ($HgCl_2$), das in einer Menge von 15 g in 20 ml konzentrierter Salzsäure (spezifisches Gewicht 1,19) gelöst wurde. Die Lösung wurde mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt.

3. Fähigkeit der Verflüssigung von erstarrtem Eiweiß (koaguliertes Löfflerserum):

3 Teile sterilen Rinderserums wurden mit 1 Teil 1-2%iger Traubenzuckerbouillon gemischt, zu je 15-16 ml in sterile Petrischalen gegossen und im Wasserbad bei 65-80°C zum Erstarren gebracht. Die Bebrütungszeit nach der Beimpfung betrug 48 Stunden. Die Verwendung von Petrischalen anstelle der in der Literatur empfohlenen Röhrchen geschah deshalb, weil wir die Sicherheit haben wollten, auch schon die geringsten Anzeichen einer Verflüssigung festzustellen. Bei dem im Röhrchen schräg erstarrten Serum ist eine eingehende Beobachtung nur schwer durchführbar.

4. Katalaseaktivität:

Die Prüfung ging in Trypsinbouillon nach Frieber vor sich, die aus 500 ml gewöhnlicher Bouillon (pH 8,0), 0,1 g Trypsin (Grübler) und 5 g Chloroform ($CHCl_3$) bestand. Die gewöhnliche Bouillon wurde in einer Glasstopfenflasche auf den pH 8,0 eingestellt und mit Trypsin und Chloroform versetzt. Nach Verschluß der Flasche mit dem gut passenden Glasstopfen und umgewickeltem und befestigten Pergamentpapier wurde die Bouillon unter oftmaligem Schütteln 24 Stunden bei 37,5°C im Brutschrank angedaut. Danach wurde das Nährmedium durch ein feuchtes Papierfilter filtriert und in einem sterilen Kolben an 2 aufeinander folgenden Tagen im Dampftopf sterilisiert. Zum Gebrauch wurde die Bouillon mit physiologischer Koch-

salzlösung im Verhältnis 3:1 verdünnt und zu je 3 ml in Agglutinationsröhrchen gefüllt, die mit Zellstoffstopfen verschlossen wurden. Eine Sterilisierung der Röhrchen im Dampftopf während einer halben Stunde beschloß die Prozedur. Die Röhrchen wurden mit den zu prüfenden Stämmen beimpft und 24 Stunden bei 37,5°C bebrütet. Nach dieser Zeit wurden mit einer Glaspipette 5-6 Tropfen einer frisch hergestellten 3 %igen Wasserstoffsuperoxydlösung zugefügt. Entstanden dabei Gasblasen, war eine Katalaseaktivität vorhanden.

5. Fähigkeit der Indolbildung:

Die gleiche Bouillon wie unter 4. wurde nach Beimpfung 24 Stunden bei 37,5°C bebrütet und anschließend das Indolreagens nach Kovacs tropfenweise hinzugegeben. Das Indolreagens bestand aus 5 g Para-Dimethylaminobenzaldehyd, 75 ml Amylalkohol ($C_5H_{11}OH$) und 25 ml Salzsäure (spezifisches Gewicht 1,19). Das Para-Dimethylaminobenzaldehyd wurde zuerst unter gelindem Erwärmen in dem Amylalkohol gelöst, abgekühlt, und unter weiterem ständigen Kühlen wurde die Salzsäure nach und nach zugegeben.

6. Ureaseaktivität:

Sie wurde auf Harnstoffschrägagar festgestellt. Der Agar enthielt als Grundmedium Trypsinbouillon und 2 % Agar. 0,5 % Traubenzucker und 1 % Harnstoff wurden als Reaktionskörper hinzugegeben. Als Indikator diente eine 0,5 %ige alkoholische Bromthymolblaulösung. Der pH-Gehalt betrug 6,8 - 6,9. Bei der Herstellung wurde von 1000 ml Trypsinbouillon (pH 6,8 - 6,9) ausgegangen. Sie wurden mit Traubenzucker und Fadenagar versetzt und 1 Stunde im Dampftopf erhitzt. Anschließend wurden zu 100 ml des Agars 3 ml 0,5 %ige alkoholische Bromthymolblaulösung zugegeben, worauf sich eine nochmalige 1/2 stündige Sterilisation im Dampftopf anschloß. Dann erst wurde pro 100 ml Agar 1 g Harnstoff unter sterilen Kautelen zugefügt. Der Nährboden wurde zu je 5 ml in sterile Rea-

gensgläser pipettiert und in Schräglage zum Erstarren gebracht. Die Bebrütungszeit nach der Beimpfung betrug 10 Tage. Im negativen Fall blieb die grüne Farbe des Nährbodens erhalten, bei Harnstoffspaltung kam es zu einem Umschlag nach blau.

7. Reduktion von Nitraten in Nitratbouillon:

Die Nitratbouillon wurde aus gewöhnlicher Bouillon (pH 7,4 - 7,6) bereitet, in der 0,1 % Kaliumnitrat (KNO_3) gelöst wurde. Nach Abfüllung der Nitratbouillon in Reagensgläser zu je 5 ml schloß sich eine 1/2-stündige Sterilisation im Dampftopf an. Die beimpfte Bouillon wurde 24 Stunden bebrütet und danach die Probe auf Reduktion durchgeführt, indem je 2 Tropfen der Nitritreagentien A und B nacheinander zugefügt wurden. Das Reagens A bestand aus 0,8 g Sulfanilsäure und 100 ml 5n Essigsäure. Das Reagens B wurde aus 0,5 g Alpha-Naphtylamin hergestellt, das in kochendem Wasser gelöst wurde. Die Lösung wurde dann mit 5n Essigsäure auf 100 ml aufgefüllt.

8. Wachstum auf gewöhnlichem Agar zum Nachweis der Serophilie:

Der gewöhnliche Agar wurde aus gewöhnlicher Bouillon bereitet, der 2 % Fadenagar zugesetzt wurde. Der Fadenagar wurde eine halbe Stunde in der Bouillon quellen gelassen und dann zusammen mit der Bouillon im Autoklaven bei 1,2 atü 2 Stunden gekocht. Anschließend wurde der gewöhnliche Agar durch Watte filtriert, im Dampftopf an 2 aufeinander folgenden Tagen sterilisiert und in Petrischalen zu je 15-16 ml gegossen. Die Bebrütungszeit nach der Beimpfung betrug 48 Stunden.

9. Wachstum auf Nitrofurazin-Blutagar:

Nach den Angaben Stolls (47) wirkt das Nitrofurazin (5-nitro-2-Furaldehydsemicarbazon) auf verschiedene grampositive und gramnegative Keime bakterizid, beeinflußt aber das Wachstum von C. pyogenes nicht. Die Substanz bot

sich somit als diagnostisches Mittel an und wurde zur Differenzierung des C. pyogenes verwendet.

380 ml gewöhnlichem Agar wurden 20 ml defibrinierten Hammelblutes und 0,013 g Nitrofurazin zugefügt, so daß das Nitrofurazin im Verhältnis 1:30000 im Blutagar enthalten war, wie es nach Stoll für feste Nährböden optimal ist. Gewöhnlicher Agar wurde zunächst mit dem Nitrofurazin versetzt und im Dampftopf eine halbe Stunde sterilisiert. Nach Abkühlen im Wasserbad auf 56°C wurde das Blut zugesetzt, gründlich mit dem Agar durchmischt und der Nährboden dann in sterile Petrischalen gegossen. Die Bebrütungszeit nach der Beimpfung betrug 48 Stunden.

10. Fermentierung von Kohlenhydraten und hochwertigen Alkoholen:

Es wurde die Fermentbildung geprüft gegenüber Glukose, Laktose, Galaktose, Maltose, Saccharose, Lävulose, Stärke, Trehalose, Raffinose, Salizin, Inulin und Mannit. Als Grundnährboden diente Peptonwasser (pH 7,6), das aus 10 g Pepton (Brunnengräber "St"), 5 g Kochsalz ad 1000 ml Aqua destillata hergestellt wurde. Das Peptonwasser wurde an 2 aufeinander folgenden Tagen je eine halbe Stunde im Dampftopf sterilisiert. Zum Gebrauch wurden je 100 ml Peptonwasser 1 g des Reaktionskörpers und 0,5 ml einer 0,5 %igen alkoholischen Bromthymolblaulösung als Indikator zugesetzt. Vor der Beimpfung wurde in jedes Röhrchen 1 Tropfen sterilen Rinderserums pipettiert und das Nährmedium dann 48 Stunden zur Probe auf Keimfreiheit bebrütet. Nach der Beimpfung verblieben die Röhrchen 10 Tage im Brutschrank bei 37,5°C und wurden täglich kontrolliert. Ein Umschlag der blau-grünen Farbe nach gelb zeigte Säurebildung an.

IV. Ergebnisse

1. Häufigkeit von C. pyogenes in den Tonsillen

Bei der Mehrzahl der 50 untersuchten Tonsillenpaare gingen auf der Blutagarplatte zahlreiche Kolonien verschiedener Art auf. Soweit die Kolonien einen beta-hämolytischen Hof zeigten, wurden sie zur Gewinnung von Reinkulturen abgeimpft. Bei 11 Tonsillenpaaren und einer einzelnen Tonsille kam es zu einer Überwucherung der Nährbodenoberfläche durch Bakterium proteus. Eine Abimpfung beta-hämolytischer Kolonien war daher unmöglich. Das bakteriologisch zuverlässig überprüfte Material umfaßte somit 38 Tonsillenpaare und eine linke Tonsille, wobei die eine linke Tonsille bei den Ergebnissen unberücksichtigt blieb.

Tab. I: Häufigkeit von C. pyogenes in den Tonsillen

Altersgruppe in Jahren	Zahl d. unters. Tonspaare	Häufigkeit von C. pyogenes in: Tonspaaren	linken Tons.: Krypte allein	linken Tons.: Gewebe allein	linken Tons.: Krypte und Gewebe	rechten Tons.: Krypte allein	rechten Tons.: Gewebe allein	rechten Tons.: Krypte und Gewebe	beiden Tons.
1-2	4	3	–	1	–	–	1	2	1
3-5	17	16	3	3	4	3	7	3	7
6-8	17	15	2	3	4	4	6	3	7

Von den 38 Tonsillenpaaren enthielten 34 das C. pyogenes. In der linken Tonsille konnte der Keim 20mal, in der rechten Tonsille 29mal nachgewiesen werden. Die Häufigkeit des Vorkommens in Krypte und Gewebe war nahezu gleich. Es ergaben sich zwar im Gewebe mehr positive Befunde, diese fanden aber wohl darin ihre Erklärung, daß das Tonsillengewebe an 2 Stellen, Kryptenmaterial aber nur an 1 Stelle untersucht wurde.

In den verschiedenen Altersgruppen kam es zu keinen erheblichen Unterschieden in der Häufigkeit des Nachweises von C. pyogenes. Bemerkenswert ist lediglich, daß in jeder Gruppe bei 1 oder 2 Tieren in den Tonsillen C. pyogenes nicht festgestellt werden konnte. Die Tonsillen fast aller Rinder waren also mit diesem Keim behaftet.

Über die Häufigkeit der positiven Befunde in den Tonsillen der verschiedenen Rinderrassen (Schwarzbuntes Niederungsrind und Höhenfleckvieh) lassen sich Aussagen nicht machen, weil die Zahlen insgesamt zu gering waren und das Zahlenverhältnis zwischen den beiden Rassen zugunsten des Schwarzbunten Niederungsrindes zu stark verschoben war.

2. Häufigkeit von C. pyogenes in seiner typischen und atypischen Variante in den Tonsillen

Alle Pyogenes-Keime wurden einer eingehenden Prüfung auf ihre biochemischen Eigenschaften unterzogen. Hierbei ergab sich, daß im wesentlichen 2 Varianten des C. pyogenes unterschieden werden mußten.

Die 1. Variante, die als typisch gelten konnte, wies folgende Merkmale auf: Beta-Hämolyse, Serophilie, Gelatinaseaktivität, Lösung von erstarrtem Löfflerserum, Lackmusmilch: Rötung, Gerinnung und Peptonisierung, indol- und urease-negativ, katalase-negativ oder -positiv, keine Reduktion von Nitraten, Wachstum auf Nitrofurazin-Blutagar, Vergärung von Glukose, Laktose, Galaktose, Maltose, Saccharose, Lävulose und Stärke, keine Vergärung von Raffinose, Salizin, Inulin und Mannit und unterschiedliches Verhalten gegenüber Trehalose.

Die 2. Variante, die als atypisch bezeichnet wird, zeigte folgende Merkmale: Beta-Hämolyse, Serophilie, Gelatinaseinaktivität, keine Lösung von erstarrtem Löfflerserum, Lackmusmilch: Rötung, Gerinnung und keine Peptonisierung, indol-, urease- und katalase-negativ, keine

Reduktion von Nitraten, Wachstum auf Nitrofurazin-Blutagar, Vergärung von Glukose, Laktose, Galaktose, Maltose, Saccharose, Lävulose, Stärke und Trehalose, keine Vergärung von Salizin und Inulin und wechselndes, aber meist negatives Verhalten gegenüber Raffinose und Mannit.

Der wesentliche Unterschied zwischen beiden Varianten besteht demnach darin, daß die atypischen Keime nicht vermögen, Gelatine zu verflüssigen und koaguliertes Serum zu lösen. Diese Keime röten die Lackmusmilch und bringen sie zur Gerinnung, aber sie peptonisieren das Milcheiweiß nicht.

Über die Häufigkeit der typischen und atypischen Pyogenes-Bakterien in den untersuchten 38 Tonsillenpaaren gibt die Tabelle II Auskunft.

Tab. II

Häufigkeit d. typischen und atypischen Variante d. C. pyogenes in d. Tonsillen

Alters-gruppe in Jahren	Zahl d. unters. Tons-paare	Häufigkeit der: typischen Variante in: Tons-paaren	typischen Variante in: linken Tons. allein	typischen Variante in: rechten Tons. allein	typischen Variante in: beiden Tons.	atypischen Variante in: Tons.-paaren	atypischen Variante in: linken Tons. allein	atypischen Variante in: rechten Tons. allein	atypischen Variante in: beiden Tons.
1-2	4	3	–	2	1	–	–	–	–
3-5	17	16	3	6	7	2	2	–	–
6-8	17	15	3	6	6	2	1	1	–

Bei den 4 1-2jährigen Rindern wurden in 3 Tonsillenpaaren nur typische Pyogenes-Keime festgestellt, und zwar je 1mal in der linken und rechten Tonsille und 2mal nur in der rechten Tonsille. Von 17 Tonsillenpaaren der 3-5 Jahre alten Rinder wurden aus 16 Tonsillenpaaren typische Stämme isoliert. Gleichzeitig konnten

aus 2 linken Tonsillen dieser Tiergruppe 2 atypische Stämme ermittelt werden. In der 6-8 Jahre alten Rindergruppe erwiesen sich von 17 untersuchten Tonsillenpaaren 15 mit typischen Pyogenes-Keimen behaftet. In 1 linken und 1 rechten Tonsille zweier Paare dieser Tiergruppe wurde außerdem je 1 atypischer Stamm ermittelt. Auf Grund diesr Untersuchungsergebnisse scheint es so zu sein, daß gesunde Rinder fast ausnahmslos in ihren Tonsillen C. pyogenes in seiner typischen Variante beherbergen. Nur in einzelnen Fällen dürfte neben der typischen auch die atypische Variante vorkommen.

Bei 1 Rind der 3-5 Jahre alten Gruppe wurden aus der linken Tonsille 15 beta-hämolytische Stämme in Reinkultur gewonnen, nachdem sich bei der Vorprüfung ergeben hatte, daß diese Keime sich ausnahmslos atypisch verhielten. Es bestand dabei die Absicht, die Stämme über eine längere Zeit wiederholt zu untersuchen, um festzustellen, ob sie ihre atypischen Merkmale beibehalten würden. Alle 15 Stämme erwiesen sich bei der ersten Prüfung im August 1961, etwa 14 Tage nach der Isolierung, als atypische Varianten. Sie verflüssigten keine Gelatine, lösten koaguliertes Serum nicht und röteten die Lackmusmilch, brachten sie zwischen 4. und 6. Tag zur Gerinnung, peptonisierten aber das Milcheiweiß während einer Beobachtungszeit von 14 Tagen nicht. Die Stämme wurden etwa 6mal über Frischblutagarplatten passagiert, dann auf Serumschrägagar gebracht und nach Zuparaffinierung des Röhrchenverschlusses im Kühlschrank aufbewahrt. Im Dezember 1962 wurden die Stämme noch einmal auf ihre atypischen Eigenschaften überprüft, nachdem sie zuvor durch eine Passage über Traubenzuckerblutagar aktiviert worden waren. 4 von den 15 Stämmen peptonisierten jetzt die Lackmusmilch am 3. Tag, nachdem sie diese am 2. Tag zur Gerinnung gebracht hatten. Sie lösten ebenfalls koaguliertes Serum und verflüssigten Gelatine. Die 4 Stämme hatten also Eigenschaften der typischen Variante angenommen. Von den 11 verbleibenden atypischen Stämmen ver-

mochten 2 Stämme am 5. Tag, 5 Stämme am 10. Tag und 1 Stamm am 11. Tag 1 Tropfen klaren Milchserums an der Oberfläche des Milchgerinnsels abzuscheiden. Wenn auch nach unserer Erfahrung das Absondern einer so geringen Menge klarer Molke nicht als ein sicheres Zeichen einer Peptonisierung angesehen werden kann, so muß doch auf dieses Phänomen hingewiesen werden, das 8mal bei 11 Stämmen beobachtet werden konnte. Alle 11 Stämme lösten innerhalb 2 Tagen koaguliertes Serum nicht. 3 Stämme verhielten sich aber gelatinase-positiv, nachdem wir dazu übergegangen waren, anstelle des bisher benutzten Gelatinasenachweises mit der Methode von Clarke die früher übliche Methode der Bebrütung der Nährgelatine in Hochschicht bei 37,5°C anzuwenden. Die Bebrütung wurde auf 6 Tage ausgedehnt. Nach Abkühlung der Röhrchen im Eisschrank bei + 5°C über 20 Minuten wurde der Nährboden darauf geprüft, ob er flüssig geblieben oder fest geworden war. Von den 11 Stämmen verblieben 8, die Gelatine nicht verflüssigten. Die gleichen 8 Stämme verhielten sich auf erstarrtem Löfflerserum negativ und peptonisierten Lackmusmilch nicht, waren also als atypische Varianten anzusehen.

Aus den Ergebnissen der Untersuchung an 15 aus 1 Tonsille 1 Rindes isolierten Stämmen, die sich zunächst atypisch verhalten hatten, kann geschlossen werden, daß sich Pyogenes-Stämme kurz nach der Isolierung in ihren Eigenschaften anders verhalten können, als sie es nach einer Aufbewahrungszeit von 15 Monaten tun. Das gilt für die Lackmusmilch, das kann aber auch für die Prüfung auf Gelatinase und erstarrtem Löfflerserum angenommen werden. Besonders hervorzuheben bleibt, daß 3 Stämme als gelatinase-positiv bezeichnet werden mußten, nachdem die Bebrütung der Nährgelatine bei 37,5°C auf 6 Tage ausgedehnt worden war und die Verflüssigung durch Prüfung auf Erstarrung nach Abkühlung vorgenommen worden war. Ob man bei 7 Stämmen eine Umwandlung der Eigenschaften annehmen soll oder die Möglichkeit

besteht, daß die Prüfungsverfahren in ihrer Erfassungsgenauigkeit unzureichend waren, muß mangels weiterer Untersuchungen dahingestellt bleiben. Aus den Untersuchungsergebnissen ist abzuleiten, daß eine sehr eingehende Prüfung erfolgen muß, ehe die Frage beantwortet werden kann, ob sich ein C. pyogenes typisch oder atypisch verhält.

V. Besprechung der Ergebnisse

Gegenstand der durchgeführten Untersuchungen war die Frage, ob und wie oft in Tonsillen klinisch gesunder Rinder das C. pyogenes anzutreffen ist. Nach Untersuchungen von Francis, Bosworth und Lovell konnte an sich mit dem Vorkommen dieser Keimart gerechnet werden. Es schien aber wichtig, die in England erzielten Ergebnisse durch Untersuchungen an Schlachtrindern zu bestätigen und interessierte außerdem zu erfahren, ob atypische Varianten ebenfalls in den Tonsillen gefunden werden konnten. Der Nachweis einer Latenz des Keimes in den Tonsillen kann unsere Kenntnisse über die Pathogenese der Pyogenesinfektionen erheblich erweitern, wodurch auch für die Bekämpfung und Prophylaxe der wirtschaftlich bedeutenden Krankheiten bessere Grundlagen erwachsen können.

Francis (13) wollte die Theorie, daß die Infektion bei der Galt-Mastitis galaktogen erfolgt, durch Untersuchungen von Tonsillen klinisch gesunder Rinder widerlegen. Er fand jedoch in den Tonsillen keine Galt-Streptokokken, sondern überwiegend das C. pyogenes. Weitz (50) führte Untersuchungen der Vagina durch und wies in 1 Fall bei 100 gesunden Kühen das C. pyogenes nach. Ochy und Zaizen (41) stellten in analoger Weise auf der Mundschleimhaut klinisch gesunder Rinder oft C. pyogenes fest, ebenso auf der Nasenschleimhaut und in der Vagina. Auch im Konjunktivalsack und im Harn konnten sie den Keim finden. Gleiche Ergebnisse erzielten Bosworth und Lovell (5), ferner alle Autoren, die Spermaproben von klinisch gesunden Bullen untersuchten, wie Bratke, Münker und Kleikamp, Hartwigk, Hancock und Kelley (6, 40, 23, 21).

Wird auf Grund dieser Untersuchungsergebnisse verschiedener Autoren unterstellt, daß das C. pyogenes ein fast regelmäßig in den Tonsillen des Rindes vorkommender

Keim ist, erhebt sich die Frage, ob der Keim nur saprophytisch vorkommt oder ob er imstande ist, den Organismus zu schädigen und dementsprechend zu einer Abwehrreaktion zu veranlassen. Diese Frage ist durch Lovells (34) und Mencks (37) Untersuchungen über den Antikörpergehalt des Blutes klinisch gesunder Rinder beantwortet worden, denn beide Autoren kamen zu dem Ergebnis, daß fast jedes Rind für das C. pyogenes spezifische Antikörper in seinem Blut aufweist. Je älter ein Rind ist, umso höher ist der Antikörpergehalt. Menck konnte überdies feststellen, daß Kälber bereits von ihrem Muttertier her hohe Antikörpertiter erlangen. Der Antikörpergehalt fällt von der 5.-6. Lebenswoche des Kalbes an ab und steigt dann allmählich wieder an. Vom 1. Lebensjahr des Rindes ab sind fast alle untersuchten Blutproben antikörperhaltig. Diese Tatsache läßt den Schluß zu, daß zwischen Organismus und Bakterien eine kontinuierliche Auseinandersetzung stattfindet, die ihren Ausdruck in dem nur unerheblichen Schwankungen unterworfenen Antikörpergehalt des Blutes findet.

Die ständige Auseinandersetzung des Organismus und Erregers dürfte nur von dort aus erfolgen, wo der Keim ein latentes Dasein führen kann. Einer dieser Orte scheint die Tonsille zu sein. Die Tonsillen sollten daher bei der Pathogenese der Pyogenesbazillose als Ansiedlungsort des C. pyogenes weit mehr berücksichtigt werden, als es bisher der Fall gewesen ist. Die Annahme ist nicht von der Hand zu weisen, daß die Latenz des Erregers in der Tonsille für die Pyogenesinfektion eine ähnliche Bedeutung hat wie die Latenz des Rotlaufbakteriums (E. muriseptica) für die Pathogenese des Rotlaufs. Diese Auffassung würde, wenn man den Ansichten Goerttlers (17,18) hinsichtlich des Rotlaufs folgt, der Auffassung Raum geben, daß die Pyogenesinfektion möglicherweise auch eine Faktorenseuche ist, die entsteht, wenn resistenzmindernde Faktoren auf den Organismus eingewirkt haben.

Für Lovell (34) ist auf Grund seiner Ergebnisse, die er bei Untersuchungen von Rindern erzielte, "die Frage nach der Pathogenese und dem Mechanismus der Infektion" zu stellen. Er glaubt bei dem häufigen,gemeinsamen Auftreten von C. pyogenes mit anderen Krankheitserregern in der Auffassung bestärkt zu werden, daß "die Möglichkeit einer in vielen Fällen endogenen Entstehung dieser Erkrankungen in Erwägung zu ziehen ist". Einen gleichen Gedanken äußert Francis (13), der meint, daß "die endogene Entwicklung der durch diesen Organismus hervorgerufenen Krankheit wahrscheinlich die Regel ist und es eine große Zahl von Keimträgern unter den Rindern gibt". Francis hält für möglich, daß "ein gewisser Faktor die Keimträgerrate erhöht und den Eintritt der Keime in den Blutstrom oder die Lokalisation im Euter erleichtert".

In Übereinstimmung mit den englischen Autoren konnte ich in vorliegender Arbeit das häufige Vorkommen von C. pyogenes in den Tonsillen bestätigen. Wenn auch die typische Variante vorherrschte, so gelang es doch auch in einzelnen Fällen die atypische Variante festzustellen. Diese stimmte in manchen Eigenschaften mit den beim Menschen nachgewiesenen atypischen Corynebakterien überein, kann aber solange mit den humanen Keimen nicht identifiziert werden, wie nicht beide Keimarten in größerer Zahl vergleichend untersucht und alle Methoden, die sich zur Differenzierung eignen, erschöpfend herangezogen worden sind (26).

VI. Zusammenfassung

1. Bei bakteriologischen Untersuchungen von 38 Tonsillenpaaren klinisch gesunder Schlachtrinder wurden in 34 Tonsillenpaaren Corynebakterien vom Genus C. pyogenes festgestellt.

2. Bei 76 untersuchten Tonsillen wurde das C. pyogenes 49mal, 20mal in der linken und 29mal in der rechten Tonsille, festgestellt. In beiden Tonsillen war der Keim 15mal übereinstimmend nachweisbar.

3. Die typische Variante des C. pyogenes wurde in 34 Tonsillenpaaren und 48 einzelnen Tonsillen gefunden. Die atypische Variante ließ sich in 4 Tonsillenpaaren, davon in beiden Tonsillen übereinstimmend Omal, jedoch 4mal in einzelnen Tonsillen ermitteln. Von aus 1 Tonsille eines Rindes isolierten 15 beta-hämolytischen Corynebakterien-Stämmen erwiesen sich 8 als atypische Variante des C. pyogenes.

4. Die Häufigkeit des Vorkommens des C. pyogenes in den Tonsillen klinisch gesunder Rinder bestätigt die von Francis und Lovell schon vor Jahren geäußerte Ansicht, daß das C. pyogenes in den Tonsillen oft latent vorkommt. Die Latenz des Keimes macht die von beiden Autoren vertretene Auffassung, daß die Pyogenesinfektion endogenen Ursprungs ist, wahrscheinlich.

C. Literaturverzeichnis

1. Ballard, D.O., A.E. Upsher u. D.D. Seely — Infektion with Corynebacterium pyogenes in man. Amer.J.Clin.Path. 17, 209, 1947

2. Barksdale, W.L. u.a. — The mutation of Corynebacterium pyogenes to Corynebacterium haemolyticum. J.Gen. Microbiol. 16, 749, 1957

3. Beaver, D.C. — A contribution to the bacteriology and pathology of sterility in cows, with report of nineteen cases. J.Amer.Vet.Med.Ass. 61, 469, 1922

4. Bergey, D.H. — Bergey's manual of determinative bacteriology. 7. ed. Baltimore: Williams u. Wilkins 1957 S. 585

5. Bosworth, T.J. u. R.Lovell — The occurence of haemolytic Cocco-Bacilli in the nose of normal sheep and cattle. J.Comp.Path. 54, 168, 1944

6. Bratke, E. — Vorkommen und Bedeutung von Corynebakterium renale und pyogenes bei der künstlichen Besamung des Rindes. Berliner Münchener tierärztl. Wschr. 65, 247, 1952

7. Brown, J.H. u. M.L. Orcutt — A study of Bacillus pyogenes. J.Exper.Med. 32, 219, 1920

8. Buergener, H. — Die Empfindlichkeit des Corynebakterium pyogenes gegen Antibiotika und Sulfonamide. Gießen, Vet.-med.Diss. 1956

9. Davis, J. u. M.D. Davis — A comparative study of the crypt content of tonsils of man, pig and cow. J.Amer.Med.Ass. 81, 1172, 1923

10. Drescher, R. — Beitrag zur Kenntnis des Corynebakterium nekrotikans. Aerztl.Wschr. 8, 573, 1953

11. Duben, J., M.Neubauer u. Z.Duben — Corynebacterium pyogenes bovis - Ein Vergleich von Tierstämmen mit humanen Varianten. Prag, Anthropozoonosy, 387, Kongreßbericht (1958)

12. Emmons, C.W. — The isolation of Actinomyces bovis from tonsils. J.Bact. 35, 39, 1938

13. Francis, J. — A bacteriological examination of bovine tonsils and vaginas. Vet.J. 97, 243, 1941

14. Francis, J. — Some observations on infektion of the bovine udder with Mycobacterium tuberculosis and Corynebacterium pyogenes. J.Path.Bact. 61, 161, 1951

15. Gärtner, H. u. H. Knothe — Über das Auftreten von C. pyogenes bei scharlachartigen Erkrankungen und Eiterungen beim Menschen. Arch.Hyg. 144, 308, 1960

16. Glage, F. in — Handbuch der pathogenen Mikroorganismen Hrsg.v.W.Kolle, R.Kraus, P.Uhlenhuth 3.Aufl. Bd.6, T.1.- Jena: Fischer; Berlin u. Wien: Urban und Schwarzenberg 1929,S.590

17. Goerttler, V. Grundlagen der Rotlaufforschung Berliner Münchener tierärztl. Wschr. 1948, 73

18. Goerttler, V. Zur Pathogenese, Epidemiologie und Bekämpfung des Rotlaufs. Mhfte.Vet.med. 7, 289 u.312, 1952

19. Grund, S. Abimpfgerät zur Isolierung von kleinen Kolonien der Frischblutplatte. Zbl.Bakt.-Abt.I Orig.178,369,1960

20. Habersang, O. Infektion mit Bazillus pyogenes beim Menschen. Berliner tierärztl. Wschr. 42, 262,1926

21. Hancock, J.L. u. W.R. Kelley Corynebacterium pyogenes in bull semen. Vet.Rec. 60, 669, 1948

22. Hartwigk, H. u. S. Grund Atypische Corynebakterien beim Rind. Zbl.Bakt.-Abt.I Orig.179,499,1960

23. Hartwigk, H. Corynebakterien in Biopsie- und Samenproben vom Rind. Berliner Münchener tierärztl. Wschr. 72, 147, 1959

24. Hartwigk, H. Atypische Merkmale von Corynebakterium (C.) pyogenes beim Rind. Dtsch.tierärztl.Wschr.68,38,1961

25. Hartwigk, H. Untersuchungen über das Hämolysin des Corynebakterium (C.) pyogenes und seiner atypischen Variante. Zschr.Hyg. 148, 142, 1961

26. Hartwigk, H. u. I. Marcus — Gelatinaseaktivität und proteolytische Eigenschaft der typischen und atypischen Corynebakterien des Corynebakterium (C.) pyogenes. Zbl.Bakt.-Abt.I Orig.186,544,1962

27. Haupt, H., H. Hörig u. R. Haupt — Ein Beitrag zur Biologie des Bac. pyogenes. Zbl.Bakt.-Abt.I Orig.96,17,1925

28. Haupt, H. u. W. Kramer — Ein Beitrag zur Biologie des Bac. pyogenes. Zbl.Bakt.-Abt.I Orig.99,293,1926

29. Haupt, H. u. E. Roots — Ein Beitrag zur Biologie des Bact. pyogenes. Zbl.Bakt.-Abt.I Orig.111,218,1929

30. Helf, H. — Beitrag zum Problem der Infektion der Geschlechtsorgane des Rindes mit Corynebakterium pyogenes. Tierärztl.Umschau 6, 232, 1961

31. Jung, E. — Beitrag zur Frage nach den das Wachstum des Corynebakterium pyogenes fördernden Stoffen. Gießen, Vet.-med.Diss. 1952

32. Kolár, J., J. Krála u. M. Bastár — Das Vorkommen von atypischen Corynebakterien beim Hornvieh. Prag,Anthropozoonosy, 392, Kongreßbericht (1958)

33. Lodenkämper, H. — Ein Beitrag zur Pathogenität pleomorpher Bakterien. Zbl.Bakt.-Abt.I Orig.158,496,1952

34. Lovell, R. — The Corynebacterium pyogenes antitoxin content of animal sera. J.Path.Bact. 49, 329, 1939

35. Mac. Lean, P.D., G.A. Liebow u. A.A. Rosenberg
Ein haemolytisches Corynebakterium, das als C. ovis und C. pyogenes beim Menschen erschien. J.Infect.Diss. 78/79, 69, 1946

36. Marsalek, E. u. K. Kadlec
Corynebakterium pyogenes als Erreger eines eitrignekrotischen Hautprozesses. Prag,Anthropozoonosy, 389, Kongreßbericht (1958)

37. Menck, K.
Zum Nachweis von für das Corynebakterium (C.) pyogenes spezifischen Antikörpern im Blute verschieden alter Rinder. Berlin,Vet.-med.Diss. 1962 (im Druck)

38. Moser, L.
Über den Nachweis von Corynebakterium pyogenes beim Menschen. Zbl.Bakt.-Abt.I Orig.158,496,1952

39. Müller, R.
Diphtheriebazillen-ähnliche Stäbchen bei Anginen mit scharlachartigem Exanthem. Zbl.Bakt.-Abt.I Orig. 40,613,1906

40. Münker, W. u. I. Kleikamp
Untersuchungen über Corynebakterien im Bullensperma. Berliner Münchener tierärztl. Wschr. 73, 151, 1960

41. Ochy, Y. u. K. Zaizen
Studies on Corynebacterium pyogenes. J.Jap.Soc.Vet.Sc. 15, 13, 1936

42. Oehring, H. u. W. Baumann
Über die Isolierung von Corynebakterium pyogenes aus einem Schwielenabszeß. Dtsch.Gesd. wes. 14, 2293, 1959

43. Patocka, F. — Durch atypische Corynebakterien verursachte Infektionen. Prag, Anthropozoonosy, 375, Kongreßbericht (1958)

44. Patocka, F. u. J. Schindler — Neu isolierte Stämme von atypischen Corynebakterien beim Menschen und ihr Vergleich mit Tierstämmen. Prag, Anthropozoonosy, 383, Kongreßbericht (1958)

45. Patocka, F. u.a. — A contribution to the problem of the so-called atypical Corynebacteria considered as human variants of Corynebacterium pyogenes. ref.in: Excerpta Medica, Sect. IV. Medical Microbiology Immunology and Serology 14, 668, 1961

46. Pilot, I., C. Buck u. D.J. Davis — Haemolytic Streptococci from tonsils of cow, hog and sheep. Proc.Soc.Exper.Biol.Med.34,233,1936

47. Stoll, L. — Atypische Corynebakterien in der Milch. Berliner Münchener tierärztl. Wschr. 73, 270, 1960

48. Taxacher, J. — Untersuchungen über die Bakterienflora im Ejakulat des Bullen. München, Vet.-med.Diss. 1952

49. Weitz, B. — The bacterial flora found in the vagina of dairy cows with special reference to Corynebacteria. J.Comp.Path. 57, 191, 1947

50. Weitz, B. C. pyogenes infection in cattle with special reference to summer mastitis. Vet.Rec. 61, 123, 1949

51. Wilson, G.S. u. A.A. Miles Topley and Wilson's principles of bacteriology and immunity.4.ed. London: Arnold 1955 S.557

52. Wollank, W. Untersuchungen über Keimgehalt und Qualität von Bullensamen. Gießen, Vet.-med.Diss. 1955

Herrn Prof. Dr. Hartwigk danke ich herzlich für die Überlassung des Themas, die Ermöglichung der Durchführung dieser Arbeit in seinem Institut und für die freundliche Unterstützung, die er mir jederzeit zuteil werden ließ.

Lebenslauf

Am 22. Juni 1932 wurde ich als Sohn des kaufmännischen Angestellten Walter Grupe und seiner Ehefrau Luise geb. Serger in Helmstedt geboren. In Weferlingen, Sachsen-Anhalt, besuchte ich die Volks- und die Oberschule und legte im Jahre 1952 mein Abitur ab. Im gleichen Jahr begann ich an der Martin-Luther-Universität in Halle das Studium der Körpererziehung. Im Sommer 1955 bestand ich das Staatsexamen und trat in den Schuldienst. Zwei Jahre übte ich den Beruf eines Sportlehrers aus, bevor ich im Herbst 1957 an der veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität in Berlin immatrikulierte. Nach vier vorklinischen Semestern legte ich im Jahre 1959 in Berlin die tierärztliche Vorprüfung ab. Meine klinischen Semester absolvierte ich ebenfalls an der Freien Universität und beschloß mein veterinärmedizinisches Studium im Januar 1963 mit dem Staatsexamen.